第 44 卷 第 4 期
2001 年 11 月

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

Vol.44, No.4
Nov., 2001

茶蚜体表漂洗物对天敌的引诱活性及组分分析

韩宝瑜*

（安徽农业大学茶业系，合肥 230036）

摘要： 行为生测和触角电位反应都证明茶蚜 *Toxoptera aurantii* 体表的正己烷或乙醚漂洗物对茶蚜重要天敌中华草蛉 *Chysopa sinica*、蚜茧蜂 *Aphidius* sp. 和七星瓢虫 *Coccinella septempunctata* 具有显著的引诱效应，正己烷漂洗物的活性稍强。GC、GC-MS 分析表明正己烷漂洗物中主要组分是苯甲醛、十一烷、2，5-己二酮、2，5 -二氢噻吩、芳樟醇、萘、4-甲基-辛烷、1，2-苯甲酸-双-（二丁基-邻苯二甲酸甲酯）、二丁基-邻苯二甲酸甲酯和二十烷，其中苯甲醛、2，5-己二酮和芳樟醇含量稍大。乙醚漂洗物中主要组分为反-2-己烯酸、正十七烷、2，6，10，14-四甲基十五烷、二十烷、四甲基四十烷、二丁基-邻苯二甲酸酯和十九烷，前 2 种组分含量较大。

关键词： 茶蚜；体表漂洗物；引诱活性；天敌昆虫；组分分析；行为生测；触角电位

中图分类号： Q968.1 **文献标识码：** A **文章编号：** 0454-6296（2001）04-0541-07

许多研究证实了寄生蜂寻找寄主的信号可源自于害虫分泌物、残留物和受害植株释放的互利素。虫害植株放出的互利素量大，有效传播距离较远，易于为觅食的天敌昆虫所接收，可探测性较强；但害虫取食之后易于转移，互利素的可靠性就较小。尽管害虫本身发出的信息量微、传送距离短，但表明了害虫的存在，其可靠性较大。近年来对昆虫体表类脂的化学通讯作用的研究发现，在许多昆虫中该类组分可作为性信息素，在社会性昆虫中作为同巢昆虫的识别标志，在某些寄生蜂中则作为模拟蚜虫体表物质的化学拟态物质[1~3]，而在害虫-天敌间的通讯效应鲜见报道。

茶蚜 *Toxoptera aurantii* 是茶树较专化的重要害虫，趋嫩性较强，危害制做高档茶的茶树嫩梢。其天敌种类较多，有些瓢虫的种群对茶蚜种群具有明显的跟随现象。它们之间肯定有着通讯联系，茶蚜体表是否存在着利它素？为了深入研究茶蚜体表物质在茶蚜-天敌之间的通讯作用、探索利用信息素调控天敌控制茶蚜，本文作者探讨了茶蚜体表有机溶剂漂洗物对几种主要天敌的引诱力度和电生理活性，并首次分析了组分。

1 材料与方法

1.1 3 种天敌对茶蚜体表漂洗物的行为反应

1.1.1 供试虫源：茶蚜及其主要天敌蚜茧蜂 *Aphidius* sp.、中华草蛉 *Chrysopa sinica* 和七星瓢

* 中国科学院动物研究所博士后，E-mail：hby@panda.ioz.ac.cn

收稿日期：1999-12-20；接受日期：2000-08-30

虫 *Coccinella septempunctata* 皆采于茶园中。置草蛉、瓢虫于500 mL罐头瓶中饲以茶蚜，实验前禁食24 h。在蚜茧蜂羽化前2~3天，剪取带有已被寄生的茶蚜成虫的茶梢，梢基部用浸有蒸馏水的脱脂棉保湿，放在500 mL罐头瓶中，瓶口蒙上3层纱布，羽化后即收集于指形管中。经群体交配后选用雌蜂，不让其产卵，未有气味经历，实验前禁食24 h。

1.1.2 Y形嗅觉仪测定法：1）Y形嗅觉仪，参照Turlings等[4]用无色玻璃制成Y形嗅觉仪。Y形管基部和两臂长10 cm，夹角90°，内径1.0 cm。两臂分别接味源瓶和对照瓶，再依次联接加湿器和空气过滤器。从嗅觉仪基部抽气时，将两臂流速调节相等，为80~90 mL/min。抽气10 s左右，用指形管从释放口引入天敌，再抽气。天敌逆气流运动，在交叉处稍作选择便进入其中的一臂，当其在该臂中行进距离≥5 cm时，才计数。每种味源测试20头天敌，每测10头时就用95%乙醇擦洗管的内、外壁，烘干后调换两臂与味源瓶和对照瓶联接位置，再测另外的10头，以消除可能存在的两臂不对称所造成的误差。假设味源对寄生蜂的趋向性不造成影响，则趋向味源和对照的百分率都是50%，据统计学原理，有假设测验 H_0：50:50，再对两臂趋向率间的差异性做 χ^2 测验。2）味源：将活蚜5 000头置于洁净培养皿中，加重蒸正己烷30 mL漂洗1.5 min，抽滤；接着用重蒸乙醚漂洗1.5 min。分别将滤液倒入具磨口的平底烧瓶中置冰柜中过夜，瓶中事先放入经450℃锻烧过的无水 Na_2SO_4 2 g吸去滤液中的水分。在40℃减压浓缩至8 mL，再用氮气吹缩至0.8 mL，存于2 mL的安碚瓶中备用。正己烷和乙醚的漂洗物分别记为正己烷漂洗物（先）（代号a）和乙醚漂洗物（后）（代号b）。

另取活蚜5 000头，按同样方法连续用重蒸乙醚、重蒸正己烷漂洗。所得漂洗物记为乙醚漂洗物（先）（代号c）和正己烷漂洗物（后）（代号d）。

试验时分别将盛有浓缩后的0.8 mL a、b、c和d漂洗物的安碚瓶放入味源瓶作为味源，各种漂洗物相应的漂洗溶剂（正己烷或乙醚）0.8 mL置入对照瓶中作为对照。

1.2 3种天敌对茶蚜体表漂洗物的电生理反应

1.2.1 测试天敌：蚜茧蜂、中华草蛉和七星瓢虫。

1.2.2 触角电位仪：含气流分配仪、多通道刺激仪、示波器、微电极放大器、后置放大器、真空泵、计算机数据采集系统、显微操作仪等。

在15 mm×7 mm滤纸正、反面各滴加10 μL味源溶液，将滤纸嵌入一端具磨口的玻璃刺激管，放入塑料管中密闭，置冰柜中待用。实验时用眼科剪刀将触角从基部剪下，再把端部剪去少许，瓢虫类则把触角端部剪开。参考电极插入触角基部，触角端部套入记录电极。将刺激管的磨口端接气流系统，出口对准触角，距离2 cm左右，流量100 mL/min。刺激时间0.1 s。间隔30 s，通入新鲜空气以清除触角周围的味源气体。由计算机采集数据[5]。每种昆虫对一种味源均测15根触角，计算EAG（electroantennogram）平均值。

1.2.3 味源：将5 000头茶蚜先用6 mL重蒸正己烷漂洗1.5 min；接着再用6 mL重蒸乙醚漂洗1.5 min。分别在冰浴中用氮气缓缓吹缩漂洗液至1 mL，所得挥发物记为a和b。依据该方法，依次用重蒸乙醚、重蒸正己烷漂洗，所得漂洗液记为c和挥发物d。测试前再用氮气吹扫浓缩至约100 μL。

1.3 漂洗液的组分鉴定

1.3.1 样品制备："1.2.3"中制备的a和c。

1.3.2 仪器及分析方法：1）气相色谱型号，日本岛津GC-9A。色谱柱：50 m×0.2 mm id

PEG-20 M 石英毛细管柱。程序升温：柱温 50～190℃，3℃/min。检测器：FID。载气：氮气。CR-2AX 色谱处理机。每次进样 3 μL。据同样条件下标准化合物保留时间对检测样中的化合物定性。2）气-质联用仪型号：气谱 HP-5890A 联用 HP-5972 MSD 质谱仪。色谱柱：50 m × 0.2 mm id PEG-20 M 石英毛细管柱。不分流进样。进样口温度：200℃。GC/MS 接口温度 280 ℃。程序升温：柱温 50～190℃，3 ℃/min，190℃时保持 5 min。每次进样 3 μL。EI 离子源，电离能 70 eV。使用全扫描。载气：99.999 %氦气，载气流量：0.625 mL/min，流速：22.4 mL/min。3）定性和定量：由化学工作站联机检索主要依据匹配度的大小对检测样中的化合物定性，对其中的少数组分参照同样条件下标准化合物在 GC/MS 上的保留时间定性。依据积分算得总离子流色谱图中各组分峰面积与内标质谱峰面积，对正己烷漂洗物，以总含量为 100%，求得各组分的百分比。对于乙醚漂洗物，当用氮气吹扫漂洗物约为 100 μL 时，加入 100×10^{-6} g/mL 的葵酸乙酯 10 μL 作为内标，以葵酸乙酯的峰面积为 100%、各组分峰面积与之相比而相对定量。

2　结果与分析

2.1　7 种天敌对茶蚜体表漂洗物的行为反应

a、b、c 和 d 对于蚜茧蜂、草蛉和瓢虫 3 个目的天敌都有明显的引诱效应（图 1）。说明茶蚜体表存在着吸引天敌的利它素，可用有机溶剂洗脱，且正己烷漂洗物的活性稍强。其中七星瓢虫对 a 和对照（正己烷）趋向率的差异达显著水平（$P < 0.05$）。

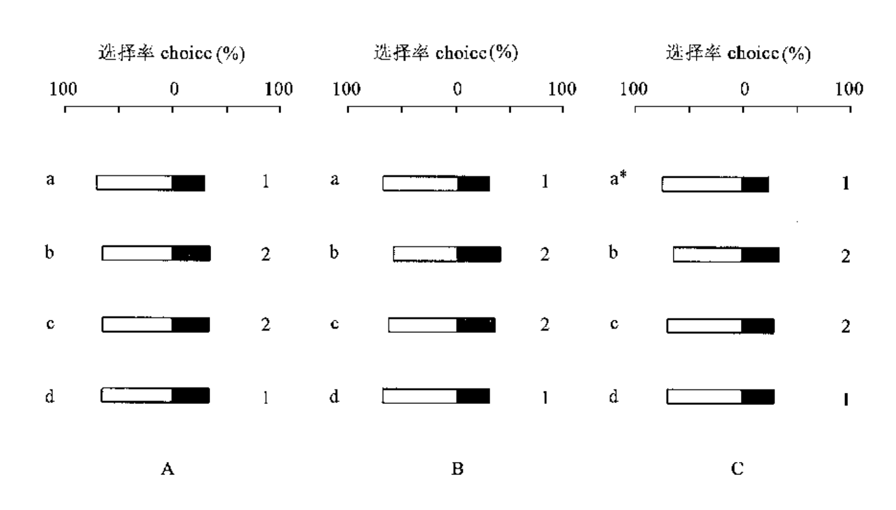


图 1　茶蚜体表正己烷和乙醚漂洗物对 3 种天敌的引诱活性

Fig. 1　Attractive activities of n-hexane and ether rinses from tea aphid body surface to three natural enemies

□ 天敌朝味源的趋向率 tendency percentages of natural enemies to odor sources;

■ 天敌朝对照的趋向率 tendency percentages of natural enemies to controls;

A：中华草蛉 *Chrysopa sinica*；B：蚜茧蜂 *Aphidius* sp.；C：七星瓢虫 *Coccinella septempunctata*；

a：正己烷漂洗物（先）n-hexane rinse（early）；b：乙醚漂洗物（后）ether rinse（late）；

c：乙醚漂洗物（先）ether rinse（early）；d：正己烷漂洗物（后）n-hexane rinse（late）；

1：正己烷 n-hexane；2：乙醚 ether；＊0.05 水平上显著 significant at 0.05 level

2.2 3种天敌对茶蚜体表漂洗物的电生理反应

漂洗物a、b、c和d均可激起3种天敌较强的EAG反应，也还是以正己烷漂洗物的活性稍强（图2），所以EAG反应值与行为反应的趋向率具有一致性。七星瓢虫的EAG反应较强，中华草蛉稍弱，蚜茧蜂又弱于中华草蛉。

2.3 正己烷漂洗物的挥发性组分

图3和图4分别为GC-MS测得的茶蚜体表正己烷和乙醚漂洗物的总离子流色谱图。正己烷漂洗物中有10种组分含量较多。其中苯甲醛（benzaldehyde）、芳樟醇（linalool）和萘（naphthalene）保留时间与标准化合物的相一致。其余7组分在本研究中则依据其在GC-MS所附化学工作站检索的匹配度而初步定性，当组分与谱库中某参比化合物相同时，匹配度为100%。查得匹配度如下：2，5-己二酮（2，5-hexanedione）为78%；二十烷（eicosane）为72%，4-甲基-辛烷（4-methyl-octane）为64%，十一烷（undecane）为67%，2，5-二氢噻吩（2，5-dihydro-thiophene）59%，1，2-苯甲酸-双-（二丁基-邻苯二甲酸酯）［1，2-benzenedicar-

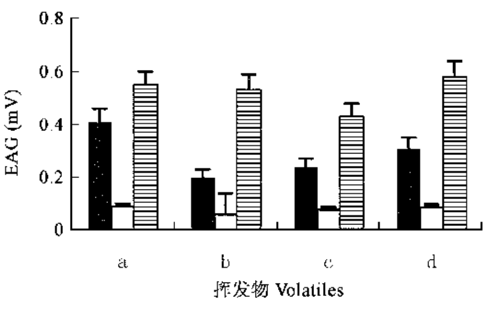


图2 3种天敌对几种茶蚜体表正己烷和乙醚漂洗物的EAG反应

Fig. 2 EAG responses of three natural enemies to of n-hexane and ether rinses from tea aphid body surface

■ 中华草蛉 *Chrysopa sinica*；
□ 蚜茧蜂 *Aphidius* sp.；
▤ 七星瓢虫 *Coccinella septempunctata*
a、b、c、d：同图1 same as Fig. 1

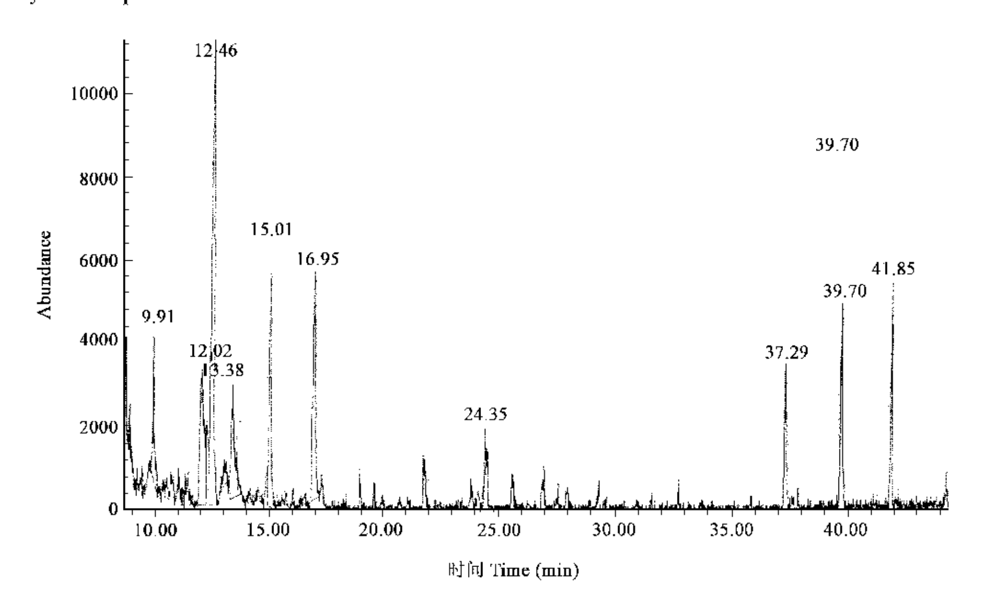


图3 茶蚜体表正己烷漂洗物的总离子流色谱图

Fig. 3 Total ion current chromatogram（TIC）of n-hexane rinse from tea aphid body surface

9.91 min：十一烷 undecane；12.02 min：苯甲醛 benzaldehyde；12.46 min：2，5-己二酮 2，5-hexanedione；13.38 min：二氢噻吩 2，5-dihydro- thiophene；15.01 min：芳樟醇 linalool；16.95 min：萘 naphthalene；24.35 min：4-甲基-辛烷 4-methyl-octane；37.29 min：1，2-苯甲酸-双-（二丁基-邻苯二甲酸酯）1，2-benzenedicarboxylic acid，bis（dibutyl phthalate）；39.70 min：二丁基-邻苯二甲酸酯 dibutyl phthalate；41.85 min：二十烷 eicosane

boxylic acid，bis（dibutyl phthalate）] 为 83%，二丁基-邻苯二甲酸酯（dibutyl phthalate）74%。如果将 10 个组分总含量计为 100%，据各组分的积分面积，算得相对百分率（图 5）。其中苯甲醛、2,5 -己二酮、芳樟醇和萘是主要成分。几种烷：二十烷、4-甲基-辛烷、十一烷，以及2,5 -二氢噻吩、1,2 -苯甲酸-双-（二丁基-邻苯二甲酸酯）和二丁基-邻苯二甲酸酯的含量稍小。

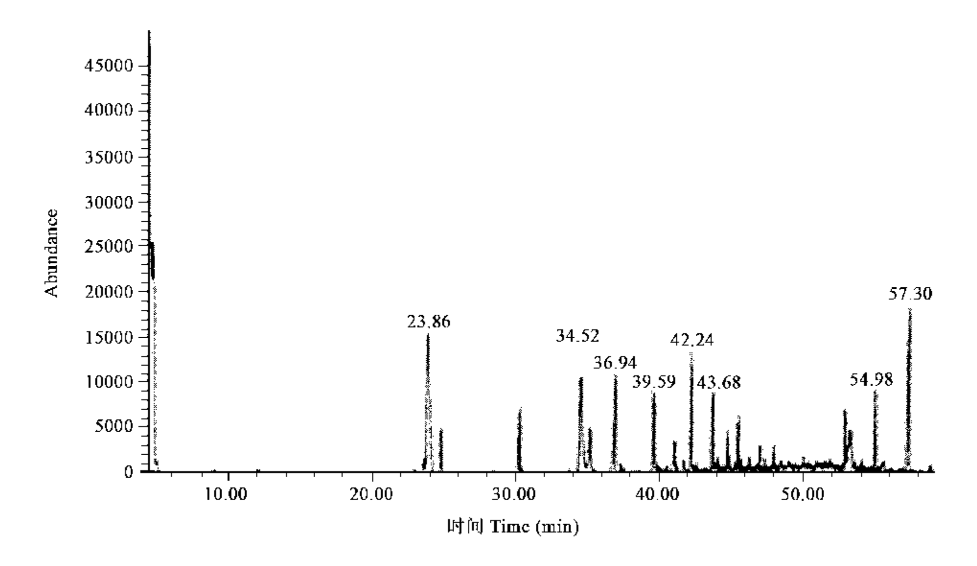


图 4　茶蚜体表乙醚漂洗物的总离子流色谱图

Fig. 4　Total ion current chromatogram (TIC) of ether rinse from tea aphid body surface

23.86 min：葵酸乙酯 decanoic acid，ethyl ester；34.52 min：反-2-己烯酸 *E*-2-hexenoic acid；36.94 min：正十七烷 heptadecane；39.59 min：二丁基-邻苯二甲酸酯 dibutyl phthalate；42.24 min：二十烷 eicosane；43.68 min：十九烷 nonadecane；54.98 min：2,6,10,14-四甲基十五烷 pentadecane，2,6,10,14-tetramethyl-；57.30 min：四甲基四十烷 tetratetracontane

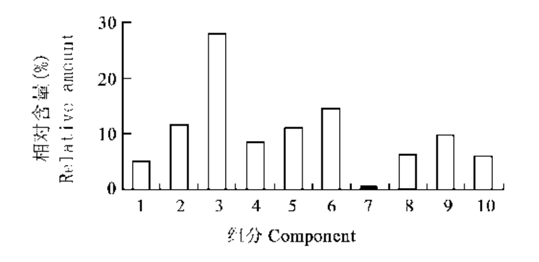


图 5　茶蚜体表正己烷漂洗物的组分及相对含量

Fig. 5　Components of n-hexane rinse of tea aphid body surface and their relative amount

1：十一烷 undecane；2：苯甲醛 benzaldehyde；3：2，5-己二酮 2，5-hexanedione；4：2，5-二氢噻吩 2，5-dihydro-thiophene 5：芳樟醇 3，7-dimethyl-1，6-octadien-3-ol；6：萘 naphthalene；7：4-甲基-辛烷 4-methyl-octane；8：1，2-苯甲酸-双-（二丁基-邻苯二甲酸甲酯）1，2-benzenedicarboxylic acid，bis（dibutyl phthalate）；9：二丁基-邻苯二甲酸甲酯 dibutyl phthalate；10：二十烷 eicosane

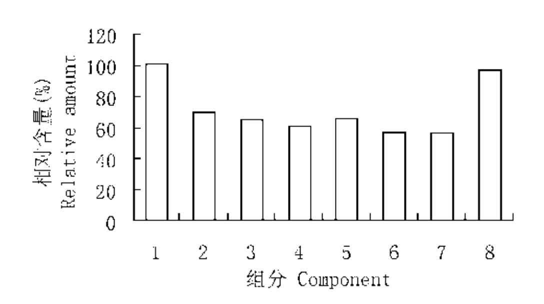


图 6　茶蚜体表乙醚漂洗物的组分及相对含量

Fig. 6　Components of ether rinse of tea aphid body surface and their relative amount

1. 葵酸乙酯 decanoic acid，ethyl ester；2：反-2-己烯酸 *E*-2-hexenoic acid；3. 正十七烷 heptadecane；4：二丁基-邻苯二甲酸酯 dibutyl phthalate；5：二十烷 eicosane；6：十九烷 nonadecane；7：2，6，10，14-四甲基十五烷 pentadecane，2,6,10,14-tetramethyl-；8：四甲基四十烷 tetratetracontane

2.4 乙醚漂洗物的挥发性组分

GC-MS 测出乙醚漂洗物 7 种含量较大的组分。反-2-己烯酸（*E*-2-hexenoic acid）与标样的保留时间一致。二丁基-邻苯二甲酸酯和二十烷是正己烷漂洗物也含有的组分，匹配度分别为 77%和 75%。正十七烷（heptadecane）匹配度是 95%，2，6，10，14-四甲基十五烷（pentadecane，2，6，10，14-tetramethyl-）为 71%，四甲基四十烷（tetratetracontane）为 68%，十九烷（nonadecane）为 78%。若将内标峰面积作为 1，各组分峰面积与之相比而相对定量（图 6），反-2-己烯酸含量较大。

3 讨论

Powell 等[6]发现无网长管蚜茧蜂 *Aphidius ervi* 强烈地攻击完整的或压碎的豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum* 蜕皮，而不进攻封闭于毛细管中的蜕皮，认为蜕皮中含有引诱该蜂的利它素。本文使用 2 种有机溶剂对茶蚜体表进行了几种方式的漂洗，所得漂洗物对 3 种天敌有一定的引诱力。所以茶蚜体表中含有利它素，是天敌搜索茶蚜的一种近距离嗅觉线索或接触性化学信息物质。

正己烷漂洗物的引诱活性稍强，由于有较大量的苯甲醛、2，5-己二酮和芳樟醇等。苯甲醛是蚜害茶梢挥发物的主要组分，也是一种吸引天敌的特异性组分（另文发表），本试验还证明 2，5-己二酮和芳樟醇也有较强的引诱活性。Liepert 等[7]发现，柄瘤蚜茧蜂属的 *Lysiphlebus cardui* 与其寄主蚕豆蚜 *Aphis fabae cirsiiacanthoidis* 体表都有正烷烃（n-alkanes），单、二、三甲基-烷烃，具有该蚜专化性烷烃化合物（除了该蚜虫种的专化性的 $> C_{30}$ 的大分子量烃）。当其在蚜群中寄生该蚜时不会遭受蚜访蚁——玉米田蚁 *Lasius niger* 的攻击，依据化学拟态而混在蚜、蚁群中寄生蚜虫。但三叉蚜茧蜂属的 *Trioxys angelicae* 体表中含有长链（C_{27}、C_{29}、C_{31} 和 C_{33}）的反-11-烯烃（alkene）而遭受该蚁的强烈攻击。意大利蜂 *Apis mellifera carnica* 体表蜡质中含有大量的直链烷烃、支链烷烃、烯烃和酯类等作为该蜜蜂鉴别等级、性别和蜂龄的物质基础[8]，碳原子的跨度为 $C_{18} \sim C_{52}$，其中 $C_{40} \sim C_{50}$ 化合物含量较大。蜜蜂嗅觉系统对碳氢化合物很敏感，工蜂、蜂后和雄蜂体表烃类的化学指纹图差异明显，个体间可据此相互识别[9]。本研究测出茶蚜体壁有较多的烷烃组分，在茶蚜-天敌通讯系统中，茶蚜体壁的烃类组分是一类重要的化学信息物质，具有利它素的效能。

寄生蜂的 EAG 已有较多研究，而瓢虫的 EAG 研究甚少。蚜茧蜂、草蛉和瓢虫种间的敏感性有差异，扫描电镜观察发现蚜茧蜂和七星瓢虫等触角上化学感受器的种类、数量和分布方式有明显的差别[10,11]，这可能是导致 EAG 和行为反应差异的主要形态学基础。

本文作者第一次报道了茶蚜体表有机溶剂漂洗物的组分，其中的少数组分用标准化合物定性，多数组分依靠匹配度初步定性，个别组分的匹配度不甚高。漂洗时间为 1.5 min，稍显长了点，有可能将体壁较深层次的物质洗脱下来。

致谢 本文茶蚜体壁物质的分离、鉴定、天敌行为测定是在中国农业科学院茶叶研究所茶叶化学工程农业部重点实验室和植保室完成的。EAG 的研究得到了北京大学生物膜与膜工程国家重点实验室吴才宏教授和马洪涛硕士的热情帮助和指导，谨于此一并致以深切的感谢。

参　考　文　献 （References）

[1] Blomquist G J, Dillwith J W. Cuticular lipids. In: Kerkut G A, Gilbert L J eds. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Vol. 3. Oxford: Pergamon Press, 1985. 117～154

[2] Lockey K H. Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. Comp. Biochem. Physiol., 1988, 89 B: 595～645

[3] Liepert C, Dettner K. Recognition of aphid parasitoids by honeydew-collecting ants: the role of cuticular lipids in a chemical mimicry system. J. Chem. Ecol., 1993, 19 (10): 2 143～2 153

[4] Turlings T C J, Bernasconi M, Bertossa R *et al*. The induction of volatiles in maize by three herbivore species with different feeding habits: possible consequences for their natural enemies. Biological Control, 1998, 11: 122～129

[5] 吴　锋，吴才宏. 昆虫嗅觉感受细胞电反应计算机数据处理. 昆虫学报，1996，39 (4)：437～440

[6] Powell W, Pennacchio F, Poppy G M *et al*. Strategies involved in the location of hosts by parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Broconidae: Aphidiinae). Biological Control, 1998, 11: 104～112

[7] Liepert C, Detter K. Role of cuticular hydrocarbons of aphid parasitoids in their relationship to aphid-attending ants. J. Chem. Ecol., 1996, 22 (4): 695～707

[8] Fröhlich B, Tautz J, Riederer M. Chemometric classification of comb and cuticular waxes of the honeybee *Apis mellifera carnica*. J. Chem. Ecol., 2000, 26 (1): 123～137

[9] Page R E Jr, Metcalf R A, Metcalf R L *et al*. Extractable hydrocarbons and kin recognition in honeybee (*Apis mellifera* L.). J. Chem. Ecol., 1991, 17: 745～756

[10] 韩宝瑜，陈宗懋，王 梅. 七星瓢虫和异色瓢虫3变种触角感器扫描电镜观察. 华东昆虫学报，2000，9 (1)：24～28

[11] 韩宝瑜. 茶蚜和蚜茧蜂触角感器的扫描电镜观察. 茶业通报，2000，22 (1)：25～26

Attractive activity to natural enemies and component analysis of the rinses from tea aphid body surface

HAN Bao-yu

(Tea Science Department of Anhui Agricultural University, Hefei　230036, China)

Abstract: With behaviour bioassay and electroantennogram investigation, it is found that both n-hexane and ether rinses from tea aphid body surface showed obvious attractive activity to its important natural enemies *Aphidius* sp., *Chrysopa sinica*, and *Coccinella septempunctata* and the attractive activity of n-hexane rinse was slight stronger. GC and GC-MS analyses showed that the main components in n-hexane rinse were undecane, benzaldehyde, 2,5-hexanedione, 2,5-dihydro-thiophene, linallol, naphthalene, 4-methyl-octane, 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis (dibutyl phthalate), dibutyl phthalate and eicosane, in which the amounts of benzaldehyde, 2,5-hexanedione and linalool were a little more than the others. The main components from ether rinse were *E*-2-hexenoic acid, heptadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-pentadecane, eicosane, tetratetracontane, dibutyl phthalate and nonadecane, among which the amounts of *E*-2-hexenoic acid and heptadecane were much more.

Key words: *Toxoptera aurantii*; body surface ringe; attractive activity; natural enemies; component analysis; behaviour bioassay; electroantennogram